

UNIVERSITÉ DE PARIS VAL DE MARNE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

ANNÉE 1971

28

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Françoise Louise Paulette Thérèse LECOMPTE

Présentée et soutenue publiquement le

ROLE DES PLAQUETTES DANS LES ÉTATS D'HYPERCOAGULABILITÉ

Président : Monsieur le Professeur JEAN-LOUIS BEAUMONT

UNIVERSITÉ DE PARIS VAL DE MARNE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL

ANNÉE 1971

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Françoise Louise Paulette Thérèse LECOMPTE

Présentée et soutenue publiquement le

ROLE DES PLAQUETTES DANS LES ÉTATS D'HYPERCOAGULABILITÉ

Président : Monsieur le Professeur JEAN-LOUIS BEAUMONT

UNIVERSITÉ DE PARIS VAL DE MARNE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE CHARENTAIS

ANNÉE 1971

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Yves-Marie LANGE



Présentée et soutenue publiquement le

ROLE DES PLAQUETTES DANS LES ÉTATS D'HYPERCOAGULABILITÉ

Président : Monsieur le Professeur JEAN-LOUIS BEAUMONT

A Monsieur le Professeur
Jean-Louis Beaumont,

qui m'a fait l'honneur
d'accepter la Présidence
de cette thèse. Qu'il
croie en ma profonde
gratitude.

A Monsieur le Professeur
Serge Renaud,

qui m'a initiée à la recherche, m'en a donné le goût, et a inspiré le sujet de cette thèse. Qu'il sache combien je lui suis reconnaissante de tout ce qu'il m'a apporté, des encouragements qu'il m'a prodigués à chaque instant, et des moyens matériels qu'il a mis, sans réserve, à ma disposition au cours de cette étude.

A Monsieur le Professeur
Vic-Dupont,

Qu'il soit remercié de
son accueil toujours
chaleureux, et de ce
qu'il m'a appris au
chevet du malade.

Je remercie Mesdames
E. Dumont et C. Toussaint,
et l'équipe du labora-
toire de pathologie
expérimentale de l'Ins-
titut de Cardiologie de
Montréal, pour la gen-
tillesse avec laquelle
elles m'ont apporté leur
aide technique.

INTRODUCTION

L'hypercoagulabilité, considérée depuis Virchow comme un facteur essentiel à la production de thromboses, est un état dont les frontières et le mécanisme restent imparfaitement connus tant par le clinicien que par l'expérimentateur. D'une part, on sait que certaines situations, généralement celles qui prédisposent à la thrombose, s'accompagnent de modifications du sang qui font que celui-ci "a une propension plus grande à former des caillots in vivo qu'un autre sang soumis à des stimuli identiques". (63) D'autre part, de nombreux travaux ont montré que dans certaines de ces situations, on pouvait observer des modifications de facteurs plasmatiques de la coagulation (18-140-22-23-24-17) ou encore de l'adhésivité ou de l'agrégabilité des plaquettes (88-100-101-93-94) La filiation entre ces perturbations quantifiables d'une part, et la survenue d'un état d'hypercoagulabilité d'autre part, est bien difficile à dégager. Il n'est en effet jamais apparu de corrélation évidente entre ces diverses perturbations et la survenue effective des thromboses. (93-94)

Les phénomènes décrits dans ce travail ont été analysés tout d'abord sur un modèle expérimental animal reproduisant de façon régulière une situation thrombogène : il s'agit du rat rendu hyperlipémique par un régime spécial. Dans ce modèle, divers stimuli entraînent la production de thromboses massives, alors qu'ils ont peu d'effets sur l'animal normal. (105)

L'hypercoagulabilité ainsi obtenue a été analysée : le rôle des plaquettes sanguines a été particulièrement étudié. A partir des données obtenues sur ce modèle, des études analogues ont été effectuées sur l'homme et l'animal pour tenter de mettre en évidence le rôle des plaquettes dans les variations du temps de coagulation, à la fois

chez l'homme normal

et dans certaines situations connues pour être thrombogènes. Parmi celles-ci nous avons choisi d'étudier :

- La grossesse chez la femme et la ratte ;
- les traitements contraceptifs hormonaux chez la femme ;
- Les suites d'un choc endotoxinique et d'une intervention chirurgicale standardisée chez le rat.

MATERIEL ET METHODES

Humains

Expérience 2

On a étudié 20 hommes et 7 femmes considérés comme normaux, âgés de 21 à 80 ans.

Expérience 4

29 jeunes femmes en bonne santé, âgées de 14 à 39 ans (moyenne 26 ans) ont été étudiées. La plupart étaient des employées d'hôpital.

6 étaient enceintes, la durée de la grossesse variant de 16 à 32 semaines.

9 prenaient les contraceptifs oraux suivants depuis une période allant de 2 mois à 4 ans $\frac{1}{2}$:

- diacétate d'étyndiol 1 mg + mestranol 0,1 mg (2)
- diacétate d'étyndiol 0,5mg + mestranol 0,1mg (1)
- diacétate d'étyndiol 1 mg + éthynyl-oestradiol 0,05 mg (1)
- norethindrone 1 mg + mestranol 0,05 mg (1)
- norethindrone 1 mg + mestranol 0,1 mg (2)
- norethindrone acetate 2,5 mg + ethinyl-oestradiol 0,05 mg (1)

- norgestrel 0,5 mg + ethinyl-oestradiol 0,05 mg (1)

(Les chiffres entre parenthèses correspondent au nombre de sujets étudiés).

Les 14 autres ont servi de témoins et n'avaient pas pris le moindre médicament depuis au moins 8 jours. (On sait en effet que quelques médicaments, pris de façon courante, comme l'aspirine ou certains anti-inflammatoires, influent sur l'agrégation des plaquettes (114)).

Le sang a été prélevé le matin à jeun, quelle que soit la période du cycle menstruel.

Animaux (Rats Holtzman)

Les animaux sont tous placés dans des salles calmes, où la température et l'environnement sont constants, et reçoivent de la nourriture et de l'eau du robinet à volonté. Les rats sont groupés par 3 dans chaque cage.

Expérience 1

Cette expérience comportait 125 rats blancs mâles dont le poids initial était de 160 à 180 grammes. Ces rats ont été divisés en 3 groupes nourris de la façon suivante pendant 10 semaines avant la prise de sang :

- Groupe 1 : nourriture standard (Purina laboratory chow, Compagnie Ralston-Purina, Canada).

- Groupe 2 et 3 : Régime de base, thrombogène, com-

prenant, en pourcentage de poids :

Caseine	11
Cellulose	15
Cholestérol	5
Sels	4
Cholate de sodium	2
Sucrose	23
Vitamines	2

auxquels étaient ajoutés :

- pour le groupe 2, de l'huile de maïs (32%) + de l'eau (6%)
- pour le groupe 3, du beurre (38%).

Expérience 3

108 rattes blanches ont été utilisées. Pour obtenir la fécondation de la moitié d'entre elles environ, 1 mâle était placé avec 2 femelles dans une cage, pendant 3 jours. Le prélèvement de sang a été fait 19 jours plus tard, de telle sorte que les rattes étaient en gestation depuis 16 à 19 jours. (La mise bas survenant le 21^e jour chez la ratte, les animaux étaient tout à la fin de leur grossesse). On a obtenu 55 rattes gestantes et 53 contrôles. La grossesse a été appréciée sur la prise de poids anormale, et vérifiée à l'autopsie, après la prise de sang.

Expérience 5

53 rats mâles ont été divisés en 2 groupes recevant de la nourriture standard.

- Le 1^{er} groupe, comportant 26 rats, a servi de contrôle.

- Le 2^e groupe (27 rats) a reçu une injection intraveineuse d'endotoxine de *S. Typhosa* (090I - Type Boivin) à raison de 2 mg par kilogramme de poids corporel, diluée dans du sérum salé à 0,95%. La prise de sang était faite au 5^e jour (+ 4 jours).

Sauf exception, cette dose n'entraîne pas la mort chez l'animal normal. Si on tue les animaux 24 heures après l'injection, l'autopsie révèle la présence de microthrombi dans les sinusoides hépatiques et de petites zones nécrotiques centrolobulaires. (105)

Expérience 6

39 rats blancs mâles ici encore ont été divisés en 2 groupes, soit :

- un groupe contrôle de 19 rats.

- un groupe de 20 rats subissant l'intervention chirurgicale standard suivante, destinée à reproduire sans effets spécifiques le dommage causé par une intervention. (65):

Les rats sont légèrement anesthésiés à l'éther. La cavité abdominale est ouverte le long de la ligne blanche, la peau séparée des muscles abdominaux. Ceux-ci sont fortement pincés 10 fois de chaque côté à l'aide d'une pince hémostatique. Les muscles et la peau sont ensuite refermés en un seul plan.

La prise de sang est aussi faite le 5e jour après cette intervention.

METHODES

Il faut souligner d'emblée l'importance d'un travail extrêmement soigneux et la nécessité de respecter pour toutes les techniques effectuées tous les détails méthodologiques indiqués, sans quoi on obtient de grandes variations dans les résultats qui ne sont alors plus comparables.

Les prises de sang

Se font dans des seringues contenant déjà l'anticoagulant, de façon à ce que le sang soit très vite mélangé à celui-ci (en inversant 3 fois la seringue). Le sang doit être aspiré lentement, sans bulles d'air. Les premières gouttes sont éliminées ou servent à la détermination du cholestérol.

- Chez l'homme, le matin à jeun, on fait la ponction dans une veine du pli du coude.

- Chez l'animal, à jeun depuis la veille, on prélève le sang dans la veine jugulaire selon la technique de Renaud (107) : le rat est légèrement anesthésié à l'éther. On incise la peau latéralement au niveau du pectoral. La veine jugulaire apparaît derrière ce muscle. Il est important de ponctionner la veine à travers le pectoral de façon à ce que l'aiguille ne bouge pas pendant la prise

de sang et ne risque pas de blesser la veine, ce qui pourrait modifier les résultats des expériences.

Tests de coagulation

Pour tous les tests de coagulation, sauf quand il le sera spécifié, toute la verrerie (seringues, tubes, pipettes) est siliconée au moins 6 fois avec une solution de silicone à 9 % dans du tétrachlorure de carbone (General electric dri-film, SC87). Seules les déterminations finales (après recalcification) sont faites dans des tubes en plastique (polycarbonate N° 2804, international equipment company), des expériences préliminaires ayant montré qu'on obtient de meilleurs résultats de cette façon. En dehors des centrifugations, qui se font à la température de la pièce, le sang ou le plasma sont gardés dans un bain-marie à 30 degrés centigrades. Pour la détermination finale, le plasma est incubé à 37 degrés.

Chacun des tests de coagulation a été répété deux fois.

Les différentes solutions utilisées sont décrites dans la table N° 1.

Temps de coagulation du plasma (TCP)

1 ml de sang est collecté dans des seringues de 2 ml contenant 0,1 ml de citrate de sodium à 3,8%.

Le plasma (contenant des plaquettes) est obtenu après une centrifugation à 700 g pendant 6 mn, faite dans la demi-heure suivant la prise de sang. Ce plasma est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur et gardé à 30 degrés pendant une période de 2 heures maximum. Il a été montré que les résultats ne changent pas avec le temps de cette façon. (108)

Pour la détermination finale, on ajoute 0,1 ml d'une solution de chlorure de sodium à 0,95%, à 0,1 ml de ce plasma, on suspend doucement et on incube ce mélange 10 mn à 37 degrés. Le temps de coagulation est alors enregistré au chronomètre, à partir du moment où on souffle rapidement, avec une pipette, 0,1 ml d'une solution de chlorure de calcium 0,02 M, qu'on mélange en remuant le tube doucement, immédiatement après.

Pour apprécier la coagulation, on incline légèrement le tube toutes les 10 secondes à partir de la 30e seconde, et on arrête le chronomètre dès la formation des premiers réseaux de fibrine visibles à l'oeil nu. Pour une personne entraînée, le test ainsi effectué est reproductible à 10 secondes près.

Temps de céphaline (TC-Cep)

Le même processus général est utilisé ; la différence avec le test précédent tient dans la centrifugation, qui se fait cette fois à 1000 g pendant 20 mn, ce qui permet

de sédimenter la plupart des plaquettes dans le culot et d'obtenir un plasma très pauvre en plaquettes. Ce plasma est alors incubé à 37 degrés avec une suspension de céphaline (un flacon de Platelin, Warner Chilcott, Morris Plains, New Jersey, dans 10 ml de chlorure de sodium à 0,76%). Ce phospholipide, en quantité connue, remplace le phospholipide plaquettaire dans la coagulation.

Comme précédemment, le temps de coagulation est déterminé à partir du moment où on recalcifie le mélange plasma-céphaline.

Temps de coagulation - Facteur 3 (TC-F3)

Pour ce test, il faut préparer un plasma standard déplaquetté pour chacune des espèces étudiées. On collecte le sang de plusieurs humains ou animaux, avec comme anticoagulant du citrate de sodium à 3,8% (1 partie pour 9 parties de sang).

La centrifugation s'effectue à 2000 g pendant 30 mn afin d'éliminer le plus parfaitement possible toutes les plaquettes.

Dans chaque groupe les plasmas sont prélevés et soigneusement mélangés. On distribue alors ce plasma standard dans des petits tubes siliconés contenant environ 1 à 2 ml et on le congèle à -28 degrés. Chacun des échantillons ainsi préparés ne doit être dégelé qu'une $\frac{1}{2}$ heure avant son emploi, et donne un temps de coagulation identique,

pour un même lot, à des essais répétés, d'environ 520 secondes pour l'homme, 420 s pour le rat.

La seconde étape consiste à préparer une suspension de plaquettes dans une solution de Tyrode incomplète (voir table 1), pour chaque sujet étudié, à la concentration d'un million de plaquettes par ml de solution.

Pour ce faire, l'anticoagulant utilisé a été l'EDTA à 0,5% (voir table 1) dans l'expérience 1, à la dose d'une partie pour 4 parties de sang, soit :

1 ml d'EDTA pour 4 ml de sang chez les rats du groupe 1

0,5 ml d'EDTA pour 2 ml de sang chez les rats des groupes 2 et 3, ces animaux étant beaucoup plus petits et plus maigres que les précédents, après 10 semaines de régime.

Dans les autres expériences, on a utilisé l'EDTA à 1,6%, au taux d'une partie pour 9 parties de sang.

La préparation de la suspension de plaquettes se fait à la température de la pièce.

Le sang mélangé à l'anticoagulant est centrifugé une première fois à 100 g pendant 8 mn. Le surnageant, plasma riche en plaquettes, est prélevé à la pipette Pasteur, et centrifugé à 1000 g pendant 18 mn. Le culot de plaquettes ainsi obtenu est lavé 2 fois dans 5 ml de solution de Tyrode incomplète, dont le pH est ajusté juste avant

l'emploi, avec de l'acide chlorhydrique normal, à 6,6. Il est à noter que cette solution doit être conservée au réfrigérateur, pendant une semaine au maximum.

Au dernier lavage, les plaquettes sont comptées au Coulter-Counter. La suspension finale se fait dans une solution de Tyrode incomplète à pH 7,4 cette fois, à une concentration de 1 000 000 de plaquettes par mm³.

Les centrifugations entre les lavages sont effectuées à 1000 g pendant 18 mn.

La suspension de plaquettes est incubée à 30 degrés pendant 30 minutes avant la détermination, ainsi que le plasma standard, des expériences préliminaires ayant montré que les résultats étaient plus stables ainsi.

On mélange alors 0,1 ml de ce plasma à 0,1 ml de la suspension de plaquettes et on incube à 37 degrés pendant 10 mn. Le temps de coagulation est ensuite déterminé comme pour le TCP, avec du chlorure de calcium 0,02 M.

Temps de coagulation de l'extrait lipidique- facteur 3 (TC-EX-F3)

Pour ce test, on fait l'extraction des lipides de la plaquette, selon la méthode de Folch et coll. (31) :

1 ml de la suspension de plaquettes utilisée pour le test précédent est prélevé après l'incubation de 30 mn à 30 degrés, et est fortement agitée, à l'aide d'un Vortex, dans 25 ml de chloroforme-méthanol 2:1, pendant 1 mn.

On filtre, puis on ajoute 5,2 ml d'une solution de NaCl à 0,73%, et on agite de nouveau pendant 20 secondes.

La couche supérieure est enlevée, et l'extrait chloroformé restant est évaporé à sec dans un bain-marie à 52-54 degrés, sous atmosphère d'azote. Le résidu obtenu est suspendu par sonication (15 s) dans 1 ml de Tyrode incomplète à pH 7,4.

On utilise 0,1 ml de cet extrait à la place de la suspension de plaquettes pour la détermination finale, qui s'effectue selon le même processus.

Agrégation des plaquettes dans le plasma

L'intensité de l'agrégation des plaquettes est appréciée par une méthode turbidimétrique (Bryston Manufacturing, Rexdale, Ontario, Canada) : l'augmentation de transmission de la lumière à travers l'échantillon lorsque les plaquettes s'agrègent, et sa diminution lorsqu'elles se désagrègent sont enregistrées sur une courbe. Les modalités de cette technique sont adaptées de la méthode de Mustard (85).

Chaque détermination nécessite 0,5 ml de plasma contenant une quantité fixe de plaquettes, et l'agent d'agrégation est ajouté dans un volume de 0,1 ml, à concentration variable selon les expériences.

Préparation des échantillons :

L'anticoagulant est du citrate de sodium à 3,8%, au taux d'une partie pour 9 parties de sang. Tout le processus entre les centrifugations s'effectue à 7-8 degrés, les centrifugations se font à la température de la pièce.

Le sang est prélevé dans des seringues de plastique, le reste des opérations se fait dans des tubes et avec des pipettes siliconées.

Le sang est centrifugé à 100 g pendant 8 mn, pour obtenir du plasma riche en plaquettes (PRP), qui est prélevé et gardé à 7 degrés. Le culot est de nouveau centrifugé, à 2000 g pendant 18 mn pour obtenir du plasma pauvre en plaquettes (PPP).

Le compte plaquettaire de chaque échantillon est alors ajusté à 500 000/mm³ pour les rats, 400 000/mm³ pour les humains, en diluant le PRP avec du PPP.

Les agents agrégants utilisés ont été les suivants :

Thrombine :

De la thrombine d'origine bovine (Parke Davis Co, Detroit, Michigan) est diluée à la concentration de 1,25 unité par ml chez l'humain, 5 unités par ml chez le rat (ou 7 U/ml dans l'exp. 6), avec une solution de Tyrode complète à pH 7,4, immédiatement avant l'emploi.

Adénosine diphosphate (ADP, sel de sodium, Sigma) :

Le produit est dissous dans de la tyrode complète à

pH 7,4, à la concentration de 5 microgrammes par ml pour l'homme, 10 microgrammes par ml chez le rat.

Collagène (Sigma) :

0,15 g de collagène est broyé dans 30 ml de Tyrode complète à pH 7,4 pendant 12 mn par périodes de 30 secondes. Cette suspension est ensuite diluée au $\frac{1}{2}$ pour le rat et conservée au réfrigérateur.

Epinéphrine :

On prépare juste avant l'emploi une solution de bi-tartrate d'épinéphrine à 1 mg/ml (Brickman Co) dans de la Tyrode complète à pH 7,4.

Appréciation de l'intensité de l'agrégation

Chez l'homme, l'agrégation n'étant pas toujours réversible, toutes les courbes ne dessinent pas un pic. On a donc choisi de mesurer la hauteur maximum de la courbe en cm (soit au niveau du pic, soit au niveau du plateau).

Chez un certain nombre de femmes et particulièrement les femmes enceintes (exp. 4), le compte du PRP n'atteignait pas toujours 400 000 plaquettes par mm³. Afin d'avoir des chiffres comparables, on a appliqué aux résultats trouvés la formule de correction suivante (113) :

$$h = h_1 + (d. K. h_1)$$

dans laquelle h est la hauteur corrigée

h₁ est la hauteur réelle de la courbe

d est la différence entre le nombre de plaquettes par mm³ contenu dans l'échantillon analysé et 400 000.

K est un coefficient variable avec l'agent agrégant utilisé, soit :

- pour la thrombine 1,3. . 10^{-5}
- pour l'ADP 0,4 . 10^{-5}
- pour le collagène 0,9 . 10^{-5}
- pour l'épinéphrine 0,5 . 10^{-5}

Chez le rat, les courbes à la thrombine et à l'ADP dessinent un pic et on a mesuré la surface du triangle se superposant le plus exactement possible à la courbe. Le collagène induit une agrégation irréversible et dans ce cas on a mesuré la hauteur de la courbe à 5 cm de l'origine.

L'agrégation des plaquettes, étudiée de cette façon, est très bien reproductible chez l'homme (113).

Chez le rat, pour des raisons inconnues, on observe de grandes variations d'un jour à l'autre. C'est pourquoi on utilise à chacune des expériences un groupe de rats témoins.

Dosage du cholestérol

Le cholestérol sérique a été déterminé par une adaptation manuelle de la technique au chlorure ferrique du "Technicon Auto-Analyser" (67) :

0,2 ml de sérum est ajouté à 4,8 ml d'isopropanol et agité. On laisse reposer 15 mn, puis on centrifuge pendant 5 mn (1000 g). A 0,5 ml du surnageant, on ajoute d'abord 4 ml d'une solution de chlorure ferrique à 0,05% dans de l'acide acétique à 95%, puis 3ml d'acide sulfurique concentré. Après 5 mn de centrifugation, la lecture se fait au spectrophotomètre, à 550 millimicrons, contre un "blanc".

Thromboses chez le rat

On induit des thromboses hépatiques en injectant par l'aiguille qui a servi à faire la prise de sang, 0,3 mg par kg de poids corporel d'endotoxine de *S. Typhosa*, diluée dans du sérum salé à 0,95%. Tous les animaux sont autopsiés, les survivants étant tués à la 24e heure.

Les thromboses importantes des veines hépatiques se traduisent par des infarctus rouges bien délimités, visibles sur le foie. On peut faire une évaluation quantitative du phénomène thrombotique en pesant le foie avant et après avoir enlevé, avec des ciseaux, les parties infarctées.

L'intensité de la thrombose est exprimée en pourcentage de poids, comme Renaud l'a rapporté.(109).

RESULTATS

Expérience 1

Dans chacun des 3 groupes de rats nourris soit avec du "chow", soit avec un régime riche en huile de maïs ou en beurre, on a pratiqué les épreuves suivantes :

- TCP, TC-Cep, TC-F3, détermination du cholestérol et évaluation de l'intensité de la thrombose dans une série,
- et tests d'agrégation des plaquettes dans une autre série. (Figure 1)

On voit clairement sur ce graphique que le régime riche en beurre induit une élévation marquée de la cholestérolémie, de l'agrégation des plaquettes par la thrombine et de l'incidence des thromboses. Parallèlement, le TCP est nettement réduit par rapport au groupe témoin (45%), de même que le TC-F3 (43%). Par contre le TC-Cep n'est réduit que de 16% par rapport aux contrôles.

Le régime riche en huile de maïs induit des changements similaires mais nettement moins marqués.

La figure 2 montre la corrélation entre le TCP et le TC-F3 des mêmes rats, qui est très bonne puisque le coefficient de corrélation est égal à 0,97.

On a comparé l'activité des plaquettes entières (TC-F3) et de leur extrait lipidique (TC-EX-F3) chez

6 rats de chacun des groupes 1 et 2, et 5 rats du groupe 3 (figure 3). Ici encore la corrélation apparaît très étroite ($r = 0,89$).

Expérience 2

Cette expérience a consisté à mesurer chez tous les sujets les 3 temps de coagulation et le cholestérol.

Comme chez l'animal, le TCP est étroitement lié au TC-F3 ($r=0,80$). (Figure 4).

Il existe d'autre part une faible corrélation inverse entre le cholestérol sérique et le TC-F3 ($r=0,51$), alors qu'il n'en existe pas entre le cholestérol et le TC-Cep ($r=0,23$). (Figure 5).

Expérience 3

On a étudié chez 13 rattes en gestation et 20 contrôles les TCP, TC-Cep, TC-F3, et le cholestérol sérique.

Le groupe en gestation présente une nette diminution du TCP (moyenne 153 ± 3), par rapport au groupe contrôle (212 ± 3) et du TC-F3 (155 ± 6). Par contre, le TC-Cep est allongé chez la ratte enceinte (moyenne 123 ± 4 , contre 82 ± 2 , chez les témoins). Toutes ces différences sont hautement significatives ($p < 0,001$).

Dans une deuxième série de 22 rattes (8 en gestation, 14 témoins), on a comparé le TC-Cep effectué selon la méthode indiquée ci-dessus à celui effectué d'une façon

très légèrement différente : la détermination finale est faite dans des tubes de verre non siliconés à la place des tubes de plastique ordinairement employés. On retrouve une différence entre les deux groupes par la première méthode qui disparaît complètement par la deuxième (TC-Cep verre 56, ± 3 pour les rattes enceintes, 54 ± 2 pour les contrôles).

Enfin le cholestérol sérique est augmenté chez l'animal en gestation.

Dans une troisième série (34 rattes en gestation, 21 contrôles) ont été pratiqués les tests d'agrégation des plaquettes la thrombine et l'ADP. Les plaquettes des rattes en gestation sont beaucoup plus sensibles aux 2 agents que celles des témoins, de façon très significative ($p = 0,02$ pour la thrombine, $p < 0,001$ pour l'ADP).

Expérience 4

Chez toutes les femmes ont été faits les trois temps de coagulation, l'étude de l'agrégation des plaquettes par la thrombine, l'ADP et l'épinéphrine, et les déterminations du cholestérol sérique. (Figure 7).

Le TCP est raccourci de façon similaire chez les femmes enceintes et chez les femmes traitées avec des contraceptifs, de même que le TC-F3. Ces résultats sont très significatifs ($p < 0,01$).

Le TC-Cep est inchangé chez les femmes enceintes, mais augmenté par le traitement contraceptif, par rapport aux femmes témoins ($p = 0,01$).

La figure 8 montre la corrélation entre le TCP et le TC-F3 chez ces femmes. Le coefficient de corrélation est de 0,78.

L'agrégation par la thrombine, l'ADP et l'épinéphrine est augmentée chez les femmes prenant un traitement hormonal, mais seul le résultat avec l'épinéphrine est significatif ($p < 0,05$).

Pendant la grossesse, la susceptibilité moyenne des plaquettes à l'agrégation par la thrombine est diminuée, dans cette expérience. Mais, dans le groupe des femmes enceintes, nous avons trouvé une corrélation entre l'intensité de l'agrégation par la thrombine et l'âge de la grossesse ($r = 0,96$, figure 9).

L'agrégation par l'ADP est plus importante pendant la grossesse, il n'y a pas de différence pour l'agrégation par l'épinéphrine entre les témoins et les femmes enceintes.

Enfin le cholestérol n'a été trouvé augmenté que par la grossesse.

Expérience 5

La figure 10 montre les résultats de cette expérience.

Dans une première série de rats, les trois temps de coagulation ont été effectués et on a trouvé des résultats similaires à ceux de l'expérience 1, c'est-à-dire une réduction du TCP de 215 ± 10 à 166 ± 8 et du TC-F3 de 217 ± 9 à 167 ± 4 chez le rat ayant subi le choc endotoxinique par rapport au rat normal.

Le TC-Cep est aussi légèrement diminué, de 90 ± 4 à 75 ± 3 .

Dans une deuxième série on a étudié l'agrégation des plaquettes par la thrombine, l'ADP et le collagène. L'agrégation par la thrombine est très nettement augmentée, alors que par l'ADP ou le collagène, elle est diminuée, au 5^e jour après le choc.

Expérience 6

Les mêmes tests que dans l'expérience précédente ont été pratiqués (figure 11).

Les résultats sur la coagulation sont encore semblables, c'est-à-dire :

- raccourcissement du TCP et du TC-F3 dans le groupe⁵ ayant subi l'intervention chirurgicale (11 rats).
- le TC-Cep est pratiquement inchangé par rapport aux témoins (12 rats).

La figure 12 montre la corrélation, toujours excellente ($r = 0,83$) entre TCP et TC-F3 pour les rats de ces deux dernières expériences.

Les résultats sur l'agrégation des plaquettes sont par contre un peu différents. En effet, on observe une nette augmentation de l'agrégation par la thrombine dans le groupe d'opérés, une augmentation de l'agrégation par l'ADP, mais pas de différence dans l'agrégation par le collagène.

DISCUSSION

De nombreux auteurs s'accordent pour dire qu'on ne peut déduire de la coagulation in vitro des conclusions sur ce qui se passe in vivo, et en particulier, déduire de ce que l'on connaît de la coagulation "en tube" les mécanismes de la formation et surtout du déclenchement des thromboses. (119)

LES ETATS THROMBOGENES

Depuis de très nombreuses années, on a relié les facteurs nutritionnels, et plus particulièrement la quantité de graisses dans l'alimentation, à la maladie athéromateuse. Strom et Jensen et Malmros (130-71) l'avaient déjà observé pendant la deuxième guerre mondiale, Keys (61) en a fait une première étude et a repris un travail similaire récemment (62), comparant l'incidence de la maladie dans des pays différents. Bien d'autres auteurs, comme Jolliffe (56) ont entrepris des études épidémiologiques qui confirment ces résultats.

Gore (34), Hirst (41) et Tanaka, Thomas et coll.(131) ont clairement montré sur des résultats d'autopsie que les patients atteints d'athérosclérose étaient beaucoup plus sensibles à la thrombose, et ici encore, ces phénomènes semblent liés à des facteurs écologiques puisqu'ils comparaient une population japonaise pour les premiers, africaine pour les seconds.

Chez des patients souffrant d'un ulcère digestif et traités avec un régime riche en cholestérol et en graisses ("Sippy"), Briggs (11) a trouvé une incidence d'infarctus du myocarde double par rapport à un groupe non traité et à une population contrôle. Des patients atteints de maladie athéromateuse présentent un raccourcissement de la coagulation. (68-23-43-44-98).

Enfin, il semble que des thrombi muraux puissent se transformer en lésions athéromateuses (36-103).

Il est assez difficile d'étudier précisément chez l'homme l'influence de régimes divers sur les vaisseaux ou la production de thromboses. Cependant, Hansen (37) a remplacé chez 133 patients d'hôpital le beurre et la margarine par une huile végétale et a observé une diminution des phénomènes thrombo-emboliques. On a pu voir que les graisses modifiaient la coagulation sanguine in vitro (87), voire in vivo, comme l'a fait Mustard (89), par une étude du turn-over des plaquettes.

Möttönen (82) et plusieurs autres (116-137-121-58) ont montré que le risque d'athérosclérose et de thromboses coronariennes était plus grand chez des personnes obèses.

Chez l'animal, un régime riche en corps gras provoque au bout de quelques semaines un accroissement de l'incidence des thromboses (47-77-90-109).

Parmi les graisses en cause, on a d'abord mis en évidence le rôle des acides gras saturés à longue chaîne. En effet, si le beurre, le beurre de cacao, l'huile d'arachide sont très thrombogènes (109), l'huile de maïs par contre l'est beaucoup moins (39-132-109). Chez le lapin même, alors qu'un régime comprenant 10% de beurre et 0,1% de cholestérol est athérogène, un régime comprenant 5% d'huile de maïs, 5% de beurre et 0,1% de cholestérol ne produit aucune lésion au bout de 9 mois: (115)

En fait, on a montré chez l'animal que les acides palmitique et surtout stéarique de l'alimentation induisent une augmentation dans les tissus et les plaquettes du rapport acides gras saturés+mono-insaturés / poly-insaturés (13-113). Cette modification des plaquettes a pu être reliée à la survenue des thromboses chez le rat. Un changement similaire se retrouve chez les patients athéroscléreux (113).

Chez le chien, Roth (119) a pu provoquer une accélération de la coagulation en injectant par voie intra-veineuse ~~une~~ suspension d'huile de coton.

L'augmentation de l'incidence des thromboses pendant la grossesse ou la prise de contraceptifs semble aussi assez bien établie (51-60-75-97), quoique de très nombreuses controverses s'élèvent encore à ce sujet (21-33-133).

Margulis (74) a trouvé un raccourcissement du temps de coagulation du plasma pendant la grossesse.

Il a été rapporté que chez les rattes enceintes, une seule injection d'endotoxine déclenche des thromboses au niveau des glomérules rénaux, fait que nous avons confirmé dans des expériences préliminaires (57-138), alors que les rattes témoins n'ont pas de lésions.

Que la période post-chirurgicale ou suivant le stress soit marquée par une augmentation des phénomènes thrombo-emboliques, nul ne le conteste. Parmi les tout premiers travaux sur ce sujet, citons ceux de Dawbarn (1928), Shapiro (1942) et plus récemment, ceux de Sevitt et Coon (19-124-127-15). Meyerowitz a fait une revue de ce sujet en en précisant les mécanismes et la prévention (79).

Innes et Sevitt (52) trouvent un raccourcissement du temps de coagulation global du sang chez 42 patients

ayant subi des blessures diverses, minimales ou très graves, du 4ème au 14ème jour ; dans une étude chez 200 opérés, Gardikas observe un raccourcissement du temps de coagulation du plasma, maximum et significatif au 5ème jour, un peu plus marqué chez des sujets ayant présenté des thromboses (32). Ferguglio (29) trouve des résultats similaires, mais un peu plus tardifs (7ème jour), plus nets chez le sujet âgé que chez le jeune.

Dans tous ces cas, on a beaucoup étudié les premiers stades, ou les facteurs plasmatiques de la coagulation, et la plupart des auteurs trouvent une augmentation d'un ou plusieurs d'entre eux. Les tableaux 2,3,4,5,6, montrent les résultats obtenus par quelques-uns des chercheurs qui ont travaillé sur ce sujet. Nous avons volontairement laissé de côté les très nombreuses études sur la fibrinolyse.

Nous avons déjà souligné plus haut que personne n'a pu relier de façon précise l'augmentation d'un ou plusieurs des facteurs plasmatiques à la survenue de thromboses chez l'homme ou chez l'animal. D'autre part, dans la coagulation normale, ces facteurs sont toujours en quantité suffisante. Enfin, malgré l'augmentation souvent importante de ces facteurs, le temps de céphaline, qui explore l'activité plasmatique de la coagulation, n'est pas raccourci (24-125-120), ou l'est peu dans nos expériences, de façon beaucoup moins importante que la coagulation

globale. Le temps de céphaline est même allongé chez les rattes enceintes. Nous y reviendrons.

ROLE DES PLAQUETTES DANS L'HYPERCOAGULABILITE

Tous ces faits tendent à montrer que les plaquettes jouent un rôle primordial dans les états d'hypercoagulabilité. On sait leur importance dans la formation du "clou hémostatique" de Hayem, première étape de l'hémostase physiologique (118). C'est l'adhésion des plaquettes aux fibres de collagène, mises à nu au niveau de la blessure d'une paroi vasculaire, puis leur agrégation secondaire, (48-49) qui permettent la fermeture de la brèche et l'hémostase.

Quick (104) a impliqué un mécanisme identique pour la formation du thrombus in vivo. Cependant, une blessure vasculaire et la présence de collagène ne sont pas constants.

Quelques auteurs (84-105-66), par des études histologiques au niveau d'organes divers, ont vu, à un stade précoce des thromboses, que le réseau de fibrine emprisonne dans ses mailles des agrégats plaquettaires. Moolten (80-81) a montré qu'il existe une chute du compte plaquettaire et surtout du taux des plaquettes adhésives dans le sang au moment où survient une thrombose.

Enfin, des substances inhibant l'agrégation des plaquettes peuvent empêcher la survenue de thromboses chez le rat (114).

Rôle du nombre, de l'adhésivité et de l'agrégabilité

C'est pourquoi le nombre, l'adhésivité et l'agrégation par divers agents des plaquettes, ont été explorés très souvent dans les états générateurs de phénomènes thrombo-emboliques. Les méthodes d'investigation sont variables avec les auteurs, mais le plus souvent, à la période où surviennent les thromboses, on a observé une augmentation du nombre de plaquettes et de leur adhésivité.

1) Dans la maladie athéroscléreuse et l'hyperlipémie Mac-Donald (69), Mustard (88) et Besterman (7) trouvent une augmentation de l'adhésivité chez les malades atteints d'athérosclérose, de même que Horlick (45), qui, en plus, a montré que les variations journalières dans l'index d'adhésivité était plus grande que dans un groupe de témoins. Pour Moolten (80-81), l'adhésivité augmente après un infarctus du myocarde et parfois même dans les heures qui précèdent. Cependant, Stormorken (129) ne trouve pas de changement, dans la maladie athéromateuse, de l'adhésivité induite par l'ADP, mais une augmentation avec l'âge de cette adhésivité.

Ardlie (1) trouve après l'infarctus du myocarde une augmentation de l'agrégation des plaquettes ; de même Zahavi (141), avec l'ADP comme agent inducteur, a montré que l'agrégation était plus rapide, qu'il n'y avait pas de désagrégation, alors que celle-ci est constante chez ses contrôles, et que la deuxième vague d'agrégation était plus fréquente que chez les témoins. Par contre, Rozenberg, après 26 cas d'infarctus du myocarde, ne trouve pas de changements significatifs dans l'agrégation par la thrombine et l'ADP (119 bis).

Cependant, des études chez le rat hyperlipémique (112) confirmées par cette expérience, mettent en évidence une augmentation de l'agrégation par la thrombine, mais au contraire une diminution de l'agrégation par l'ADP et le collagène par rapport aux rats contrôles.

L'augmentation de l'agrégation par la thrombine a été retrouvée dans l'expérience 1, et est parallèle à l'augmentation de l'incidence des thromboses.

2) Pendant la grossesse ou le traitement contraceptif hormonal.

Margulis (74), pendant la grossesse, et Pepper (101), lors de traitements contraceptifs, trouvent une augmentation du nombre des plaquettes, contrairement à Nilsson (93-94) et Owen (99).

Pour Farbiszewski et Bolton (28-8^b), les contraceptifs augmentent l'adhésivité des plaquettes, mais pour d'autres, (93-94-123), ni ce traitement ni la grossesse n'influent sur cette fonction. Ygge (140) a même remarqué une diminution de l'adhésivité après 5 ou 6 mois de traitement hormonal.

On a rapporté que l'agrégation par l'ADP était augmentée par certains contraceptifs (28), mais pas par d'autres (102).

De plus, Elkeles (25) a montré qu'un traitement oestrogénique chez les hommes induisait une augmentation de l'adhésivité des plaquettes, une augmentation de leur mobilité électrophorétique, et une augmentation de leur agrégation par l'ADP, similaires à celles observées chez des malades atteints d'athérosclérose.

Dans nos expériences, si les plaquettes des rattes enceintes sont nettement plus sensibles à l'agrégation par la thrombine et l'ADP que celles des contrôles, par contre chez les femmes, nous n'avons pas de résultats aussi nets. Plusieurs explications sont possibles :

- Notre groupe contrôle a présenté une grande variabilité dans la réponse des plaquettes à la thrombine. La surface moyenne des courbes, $3,7 \pm 0,7$ cm², est très supérieure à celle d'un groupe comparable d'hommes (même âge, même mode de vie, même métier, même taux de cholestérol sérique), que nous avons étudiés ensuite, soit

$1,4 \pm 0,2 \text{ cm}^2$. Nous n'avions auparavant jamais observé de différence entre jeunes hommes et femmes pour ce test.

- Pensant que la quantité d'hormones mises en jeu par la grossesse ou le traitement contraceptif était très supérieure aux taux physiologiques, nous n'avons pas tenu compte du cycle menstruel. Des expériences sont en cours pour savoir si celui-ci peut avoir une influence sur l'agrégation des plaquettes ; il a déjà été montré qu'il existe des variations physiologiques du TCP et du cholestérol sanguin (108) au cours du cycle. Cependant Rozenberg (119 bis), étudiant chez 10 femmes, pendant 1 mois, l'agrégation des plaquettes par la thrombine, n'a pas trouvé de modifications dues aux menstruations. Les doses de thrombine qu'il a employées étaient très fortes et nous pensons que cela peut masquer des variations réelles mais peu importantes.

- Enfin, nous n'avons pas tenu compte du type et du dosage des contraceptifs utilisés ; peut-être certaines hormones ont-elles plus d'effet que d'autres. Ici encore, des expériences sont nécessaires pour le déterminer.

La diminution de l'agrégation par la thrombine chez nos femmes enceintes nous a surpris ; ce résultat peut s'expliquer par le petit nombre de femmes étudiées. D'autre part, il semble exister une relation entre l'âge de la grossesse et la sensibilité des plaquettes à la thrombine. Là encore l'échantillon est trop petit pour tirer des

conclusions définitives. Mais ce phénomène peut expliquer les très bons résultats obtenus chez la ratte, que nous avons étudiée en fin de grossesse.

Enfin, il est surprenant que l'agrégation par l'épiphrine soit augmentée chez les femmes prenant des contraceptifs et non chez les femmes enceintes. Les mêmes raisons peuvent expliquer ce résultat.

3) Dans les suites d'une agression.

Les variations du compte et de l'adhésivité plaquettaire après une intervention chirurgicale ont été étudiées par de très nombreux auteurs. Après une chute du nombre des plaquettes dans les 2 ou 3 premiers jours de la période post-opératoire, on assiste à une augmentation progressive à partir du 4e-5e jour, puis le retour à la normale s'effectue progressivement en une dizaine de jours. (91-80-81-50).

L'augmentation du compte plaquettaire s'accompagne en général d'une augmentation de l'adhésivité de celles-ci, ainsi que l'ont montré les précédents auteurs et bien d'autres (139-19-35-100-2-26; pour n'en citer que quelques-uns), quelles que soient les méthodes employées (adhésivité induite par l'ADP pour Bygdeman (12); méthode avec des billes de verre pour Bennet (6), filtration sur laine de verre pour Moolten (80-81).)

Ces phénomènes surviennent à la même période que les phénomènes thrombo-emboliques (19-124). Hume (50) a relié plus exactement l'augmentation de l'adhésivité et du compte plaquettaire à la survenue de thrombose chez ses patients, de même que Bygdeman (12), mais au contraire Negus (91), détectant les thromboses des veines profondes à l'aide de fibrinogène marqué à l'iode radioactif, ne trouve pas de corrélation entre celles-ci et l'adhésivité des plaquettes.

Ces phénomènes se retrouvent non seulement après la chirurgie, mais après une agression quelconque, comme une infection (80-81), une brûlure (54). Bolton (8) et Zahavi (141) ont observé une augmentation de l'agrégation des plaquettes par l'ADP après un "stress" varié (accident cérébro-vasculaire, infection sévère, infarctus pulmonaire, par exemple).

Latour et Renaud (65-108 bis) ont montré chez le rat que les mêmes fluctuations des plaquettes (compte et adhésivité) sont présentes dans diverses conditions (outre la chirurgie et le choc endotoxinique, une fracture ou l'immobilisation forcée), qu'à la période de thrombocytose maximale l'animal était très sensible aux thromboses, et que tous ces phénomènes pouvaient être prévenus par l'administration de corticoïdes à hautes doses. Ils concluaient de cette étude que c'était le "stress" qui était responsable, plus qu'un facteur spécifique éventuel. Nous avons entrepris l'étude de l'agrégation des plaquettes chez le

rat 4 jours après la chirurgie et le choc endotoxinique, des expériences antérieures ayant montré que les variations étaient très nettes à cette période, et l'incidence des thromboses importante (108 bis). Il n'y a que l'agrégation par la thrombine qui soit augmentée dans les 2 cas ; l'agrégation par l'ADP est augmentée après la chirurgie mais diminuée après le choc endotoxinique.

Le point qui résulte de notre étude est que seule l'agrégation des plaquettes par la thrombine, et non l'ADP ou le collagène, est en relation avec les phénomènes thrombotiques chez l'animal.

La dissociation des résultats entre les différents inducteurs de l'agrégation est surprenante, puisqu'il semblerait que la thrombine, comme le collagène, agissent sur la plaquette par l'intermédiaire de la libération d'ADP, qui elle-même induirait l'agrégation (41-72-119 bis).

Cependant plusieurs faits vont à l'encontre de ceci :

- chez différentes espèces animales, des plaquettes lavées, encore sensibles à la thrombine, ne s'agrègent pas sous l'effet de l'ADP (92-117).

- chez le rat hyperlipémique (113) où au 5e jour d'un choc endotoxinique dans notre expérience, l'agrégation par la thrombine est très augmentée, alors que par l'ADP ou le collagène elle est diminuée ; en contraste, chez la ratte enceinte, l'agrégation par l'ADP est augmentée, de

même qu'au 5e jour après une intervention chirurgicale. Et dans ce dernier cas, il n'y a pas de changement dans l'agrégation par le collagène par rapport aux témoins.

Tout ceci implique soit des mécanismes différents dans chaque cas, que nous ne savons pas encore expliquer, soit que nos méthodes ne sont pas assez sensibles ; un éventuel manque de fidélité ne joue pas puisque nous avons pris des animaux témoins à chaque expérience.

L'impossibilité actuelle de montrer une relation entre l'agrégation des plaquettes par la thrombine et un état favorisant les thromboses chez l'humain pourrait être expliquée par les variations du taux des gluco-corticoïdes sanguins. Des expériences préliminaires indiquent en effet que les plaquettes sont extrêmement sensibles à ces hormones.

Rôle du facteur 3 plaquettaire

Les plaquettes interviennent encore dans la coagulation extrinsèque ou intrinsèque, en "produisant" le facteur 3, qui est indispensable à l'activation de la prothrombinase. Son déficit entraîne un état hémorragique (38-38 bis-136).

On a beaucoup discuté de la nature exacte de ce facteur. Il semble qu'il s'agisse d'une lipoprotéine dont la partie lipidique, active, comporte plusieurs phospho-

lipides (55). En fait, la phosphatidyl-sérine seule, extraite des plaquettes, a une activité coagulante identique à celle de la plaquette entière (110). Cependant, pour Mustard, la phosphatidyl-sérine a une activité anticoagulante (86) ; mais il s'agit là de produits synthétiques ou extraits d'organes divers, qui peuvent différer dans leurs propriétés de la phosphatidyl-sérine plaquettaire. De plus, l'oxydation liée au vieillissement du produit peut modifier ses propriétés.

La localisation exacte du facteur 3 dans la cellule n'est pas non plus définitivement établie ; il semble siéger au niveau des granules et de la membrane plaquettaire (95), et serait excrété par ouverture à l'extérieur des granules, dont la membrane périphérique s'intégrerait à la membrane plaquettaire.

Peu de recherches ont été faites sur le F3 dans les états d'hypercoagulabilité. Nordoy (96) trouve une augmentation de l'activité du F3 chez des patients athéroscléreux, dont on peut rapprocher nos résultats sur le rat hyperlipémique. Il existerait aussi une augmentation des phospholipides plaquettaires chez ces malades ; dans des expériences préliminaires chez le rat, nous n'avons pas trouvé une telle différence.

Horowitz (46) a fait des études in vitro et in vivo de l'activité de l'endotoxine, et montre que l'effet hyper-

coagulant de celle-ci est dû à une libération du facteur 3 plaquettaire. Mais il s'agit là d'une action immédiate de l'endotoxine (soit dans les heures qui suivent une injection intra-veineuse, soit après une incubation des plaquettes avec la toxine, comme il le souligne. Il est probable que cette activité n'a rien à voir avec ce qui se produit 4 jours après l'injection de toxine, ce d'autant que nous avons montré qu'il ne s'agit pas d'un effet spécifique. L'activité F3 mise en évidence par Horowitz disparaît d'ailleurs rapidement du plasma.

Quoi qu'il en soit des mécanismes intimes d'action du facteur 3, le fait essentiel qui ressort de nos expériences est le suivant : la rapidité de la coagulation in vitro, que ce soit chez le sujet normal ou chez le sujet prédisposé aux thromboses, chez l'homme ou chez l'animal, tous les autres facteurs de coagulation étant présents, est liée de façon très étroite à l'activité du facteur phospholipidique plaquettaire 3. Dans les états hypercoagulables, c'est l'augmentation de l'activité de ce facteur qui est responsable de l'accélération de la coagulation, plus que l'augmentation en quantité d'un ou plusieurs des facteurs plasmatiques.

Il faut insister sur le fait qu'aux doses physiologiques, c'est la qualité et non la quantité du F3 qui joue, comme l'ont montré des expériences préliminaires.

Dans cette optique, puisque la composition en acides gras des lipides plaquettaires est modifiée chez le rat hyperlipémique (113), et que le facteur 3 est de nature lipidique, nous avons examiné la composition des lipides totaux des plaquettes chez les rats des expériences 3-5-6, par chromatographie en phase gazeuse. Nous n'avons pas trouvé de modification, par rapport aux rats témoins, par cette méthode. Cependant il se peut que celle-ci ne soit pas assez sensible pour déceler un changement mineur au niveau moléculaire.

Une autre hypothèse serait qu'un changement dans la composition des acides gras se produise juste au moment de la coagulation, lequel ne serait alors pas décelable puisqu'on extrait les lipides de plaquettes prélevées sous anticoagulant. On a montré à l'aide de corps radioactifs que la plaquette est capable d'incorporer (127), voire de synthétiser des acides gras en quelques minutes.

Bien des expériences restent à faire pour démontrer le mécanisme d'action exact du facteur 3, et si l'augmentation de son activité peut être responsable d'un état thrombotique ; cependant, il reste un des seuls facteurs qui n'ait pas été exploré à fond ; et encore une fois aucun des autres facteurs connus n'a pu être relié à la survenue des thromboses.

Un résultat reste à discuter, qui nous a surpris : c'est l'allongement du temps de céphaline chez les rattes enceintes, que nous avons retrouvé chez certaines femmes enceintes et traitées avec des contraceptifs, bien que ceci n'apparaisse pas sur les moyennes. Rutherford chez la femme, et Kaley chez l'animal ont montré que la grossesse ne changeait pas le temps partiel de thromboplastine (120-57) (temps similaire au TC-Cep), pratiqué avec du matériel non siliconé. Pour Sise (125), il y a un discret allongement, non significatif, de ce temps de coagulation effectué dans des tubes en matière plastique, chez des femmes traitées avec 2 types de contraceptifs.

Cet allongement du TC-Cep observé chez la ratte enceinte disparaît complètement lorsqu'on utilise du matériel non siliconé.

On peut donc penser qu'il existe pendant la grossesse une diminution du phénomène de "contact", lié aux facteurs de Hageman et P.T.A. (Soulier et Prou-Wartelle : 126). Cette activité serait suffisante pour être révélée par le verre ordinaire mais pas par le matériel siliconé. Rutherford (120), chez des femmes traitées par un contraceptif, a observé une diminution du facteur P.T.A., mais pas du facteur de Hageman.

Ce point reste à explorer plus en détail.

En conclusion, voici, à la lumière de ce travail, une hypothèse possible expliquant la survenue d'un phénomène thrombotique chez l'humain.

Sous l'influence, soit de l'adrénaline sécrétée de façon physiologique (Besterman (7) pense que l'adhésivité des plaquettes varie dans le nycthémère parallèlement à la sécrétion d'adrénaline), soit d'une décharge de cette hormone sous l'effet d'un stress (on sait le rôle d'une émotion dans le déclenchement d'un infarctus du myocarde), les plaquettes plus sensibles à l'agrégation par cet agent (une étude en cours chez des malades athéroscléreux, nos résultats chez la femme traitée par les contraceptifs semblent montrer que tel est le cas) s'agrègeraient de façon plus rapide, plus intense et plus prolongée, et en plus grand nombre ; ceci pourrait être favorisé par la stase sanguine chez le malade alité ou la femme enceinte, ou un rétrécissement d'un vaisseau chez l'athéroscléreux ; et de plus cet agrégat de plaquettes pourrait lui-même ralentir la circulation dans un petit vaisseau.

L'adrénaline d'autre part entraîne la mobilisation d'acides gras libres. Or on sait (9-14-73) que certains acides gras sont capables d'activer le facteur de Hageman, La mise en route de la chaîne de réactions enzymatiques de la coagulation dite extrinsèque pourrait alors se faire.

La sécrétion d'ADP et la mise en disponibilité du ou des facteurs plaquettaires de la coagulation serait plus importante quantitativement d'une part, avec en plus une dilution moins rapide par le flot sanguin, d'autre part qualitativement, puisque nous avons montré que le F3 était plus actif dans les états prédisposant aux thromboses.

On sait que la coagulation in vitro s'accélère dès les premières traces de thrombine présentes. Si les plaquettes de l'humain prédisposé aux thromboses sont plus sensibles à la thrombine (comme celles de l'animal), une sorte de réaction en chaîne pourrait avoir lieu ; d'autant plus que la phosphatidyl-sérine, que nous croyons être le F3, semble induire l'agrégation des plaquettes (expériences préliminaires).

Il faudrait donc que soient réunies la stase, au moins locale, l'augmentation de la sensibilité des plaquettes à l'agrégation par l'épinéphrine et la thrombine, une mise en circulation de certains acides gras libres, et l'hypercoagulabilité due à l'augmentation d'activité du F3, pour qu'un phénomène thrombotique se produise en l'absence d'une lésion vasculaire.

CONCLUSION

L'hypercoagulabilité, qui est avec la stase et la lésion endothéliale l'un des éléments de la classique triade de Virchow, nécessaire à la formation de thromboses, semble donc essentiellement imputable à des modifications de la plaquette sanguine. Il s'agit d'une augmentation de l'activité du facteur 3 plaquettaire, qui paraît être, dans les conditions normales, le facteur limitant dans la dynamique de la coagulation ; en effet, les variations du temps de coagulation global du plasma sont, en l'absence de déficit majeur de facteur plasmatique, en étroite corrélation avec celles de ce que nous avons appelé "temps de coagulation-facteur 3" (temps de coagulation d'un plasma standard dans lequel on a suspendu des plaquettes du sang à étudier).

Le mécanisme intime de ces modifications n'est pas encore totalement éclairci. Des expériences préliminaires indiquent qu'une variation au niveau des acides gras de la molécule de phosphatidyl-sérine serait impliquée dans le changement d'activité du facteur 3, du moins dans l'hyperlipémie.

D'autre part, une augmentation de la susceptibilité des plaquettes à l'agrégation par la thrombine correspond clairement chez l'animal à une plus grande sensibilité à la thrombose. Ce phénomène reste à préciser chez l'homme.

BIBLIOGRAPHIE

- 1.- ARDLIE, N.G., KINLOUGH, R.L. and SCHWARTZ, C.J. : In vitro thrombosis and platelet aggregation in myocardial infarction. Brit. Med. J. i:888, 1966.
- 2.- ARDLIE, N.G., KINLOUGH, R.L. and SCHWARTZ, C.J. : In vitro thrombosis and platelet behaviour after operation. Aust. Ann. Med. 16: 4, 1967.
- 3.- BEAUMONT, J.L., and LENEGRÉ, J. : Revue d'Hématologie 7: 228, 1952.
- 4.- BEAUMONT, J.L., CHEVALIER, H. et LENEGRÉ, J.: Amer. Heart J.: 45: 756, 1953.
- 5.- BELLER, F.K., and PORGES, R.F.: Blood coagulation and fibrinolytic enzyme studies during cyclic and continuous application of progestational agents. Amer. J. Obstet. Gynecol. 97: 448, 1967.
- 6.- BENNET, P.N.: Post-operative changes in platelet adhesiveness. J. Clin. Path., 20: 108, 1967.
- 7.- BESTERMAN, E., MYAT, G., and TRAVADI, V.: Brit. Med. J. 1: 597, 1967.
- 8.- BOLTON, C.H., HAMPTON, J.R., and MITCHELL, J.R.A.: Nature of the transferable factor which causes abnormal platelet behaviour in vascular disease. Lancet 2: 1101, 1967.
- 8 bis. BOLTON, C.H., HAMPTON, J.R., and MITCHELL, J.R.A.: Effect of oral contraceptives agents on platelets and plasma phospholipids. Lancet 1: 1336, 1968.

- 9.- BOTTI, R.E. and RATANOFF, O.D.: The clot-promoting effect of soaps of long chain saturated fatty acids. J. Clin. Invest. 42: 1569, 1963.
- 10.- BRAKMAN, P., ALBRECHTSEN, O.K., and ASTRUP, T.: Coagulation, fibrinolysis and oral contraceptives. J. Amer. Med. Assoc. 199: 69, 1967.
- 11.- BRIGGS, R.D., RUBENBERG, M.L., O'NEAL, R.M., THOMAS, W.A., and HARTROFT, W.S.: Myocardial infarction in patients treated with Sippy and other high milk diets. An autopsy study of fifteen hospitals in the USA and Great Britain. Circulation 21: 538, 1960.
- 12.- BYGDEMAN, S., ELIASON, R., and JOHNSON, S.R.: Relationship between post-operative changes in ADP-induced platelet adhesiveness and venous thrombosis. Lancet 1: 1301, 1966.
- 13.- CASTER, W.O., MOHRHAUER, H., and HOLMAN, R.T.: Effects of twelve common fatty acids on the diet upon the composition of liver lipid in the rat. J. Nutr. 89: 217, 1966.
- 14.- CONNOR, W.E.: The acceleration of thrombus formation by certain fatty acids. J. Clin. Invest. 41: 1199, 1962.
- 15.- COON, W.W., and WILLIS, P.W.: Deep venous thrombosis and pulmonary embolism. Prediction, prevention and treatment. Am. J. Cardiol. 4: 611, 1959.
- 16.- DAVIDSON, E., HOWARD, A.N., and GRESHAM, G.A.: Blood coagulation studies in rats given diets which produce thrombosis or atherosclerosis. Brit. J. Exp. Path. 42: 195, 1961.
- 17.- DAVIDSON, E., HOWARD, A.N., and GRESHAM, G.A.: The nature of the coagulation defect in rats fed diets

- which produce thrombosis or atherosclerosis. Brit. J. Exp. Path. 43: 166, 1962.
- 18.- DAVIDSON, E., and TOMBIN, S.: The levels of the plasma coagulation factors in the post-operative period. Thromb. Diath. Haemorrh. 10: 81, 1963.
 - 19.- DAWBARN, R.V., EARLAIN, F., and EVANS, W.H.: The relation of the blood platelet to thrombosis after operation and parturition. J. Path. Bact. 31: 833, 1928.
 - 20.- DONAYRE, J., and PINCUS, G.: Effect of Enovid on blood clotting factors. Metabolism 14, 3 part 2: 418, 1965.
 - 21.- DRILL, V.A., and CALHOUN,: Oral contraceptives and thrombo-embolic disease. J.Amer. Med. Assoc. 206: 22, 1968.
 - 22.- EGEBERG, O.: Changes in the coagulation system following major surgical operations. Acta Med. Scand. 171: 679, 1962.
 - 23.- EGEBERG, O.: Clotting factors levels in patients with coronary atherosclerosis. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 14: 253, 1962.
 - 24.- EGEBERG, O., and OWREN, P.A.: Oral contraception and blood coagulability. Brit. Med. J. 1:220, 1963.
 - 25.- ELKELES, R.S., HAMPTON, J.R., and MITCHELL, J.R.A.: Effects of estrogens on human platelet behaviour. Lancet 2: 315, 1968.
 - 26.- EMMONS, P.R., and MITCHELL, J.R.A.: Post-operative changes in platelet clumping activity. Lancet 1: 71, 1965.
 - 27.- EVANS, J.A., and BOLLER, R.J.: The prevention of post-operative pulmonary embolism: an analysis of fifty-two fatal cases in 6 years.

- 28.- FARBISZEWSKI, R., and KUROWSKA, T.: Platelet adhesiveness, aggregation and fibrinolysis after the oral administration of the contraceptive "Lyndiol". *Thromb. diath. Haemorrh.* 24: 304, 1970.
- 29.- FERGUGLIO, G., SANDBERG, H., and BELLET, S.: Post-operative changes in blood coagulation in elderly patients. *Amer. J. Card.* 5: 477, 1960.
- 30.- FISHER, L., KAGAN, E. and KUPFER, H.G.: Blood coagulation changes in rats fed high fat diets. *Circ. Res.* 13: 529, 1963.
- 31.- FOLCH, J., LEES, M., and SLOANE STANLEY, G.H.: Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biochem.* 226:497, 1957.
- 32.- GARDIKAS, J.W., TSAKAGANNIS, E. and THOMOPOULOS, D.: Post-operative changes in the results of coagulation tests. *Acta Haemat.* 21: 129, 1959.
- 33.- GOLDZIEHER, J.W.: Oral contraceptives : Review of certain metabolic effects. *Fed. Proceed.* 20,3: 1220, 1970.
- 34.- GOREI, HIRST, A.E. and TANAKA, K.: Myocardial infarction and thromboembolism : a comparative study in Boston and Kyushu, Japan. *Arch. Int. Med.* 113: 323, 1964.
- 35.- HAM, J.M. and SLACK, W.W.: Platelet adhesiveness after operation. *Brit. J. Surg.* 54: 385, 1967.
- 36.- HAND, R.H. and CHANDLER, A.B.: Atherosclerotic metamorphosis of autologous pulmonary thrombo-emboli in the rabbit. *Amer. J. Path.* 40: 469, 1962.
- 37.- HANSEN, P.F., GEILL, T. and LUND, E.: *Lancet* 2: 1193, 1962.

- 38.- HARDISTY, R.M. et HUTTON, R.A.: Platelet aggregation and the availability of platelet factor 3. Brit. J. Haemat. 12: 764, 1966.
- 38
bis. HARDISTY, R.M. et HUTTON, R.A.: Bleeding tendency associated with "new" abnormality of platelet behaviour. Lancet 1: 983, 1967.
- 39.- HARTROFT, W.S., and THOMAS, W.A.: Pathological lesions related to disturbances of fat and cholesterol metabolism in man. J. Amer. Med. Assoc. 164: 1899, 1957.
- 39
bis. HARTROFT, W.S., and O'NEAL, R.M.: Experimental production of coronary atherosclerosis. Amer. J. Cardiol. 9: 355, 1962.
- 40.- HASLAM, R.J.: Mechanisms of blood platelet aggregation. In "Physiology of hemostasis and thrombosis". Johnson, S.A. and Seegers, W.H. Charles C. Thomas, Springfield III, 1967. p.88.
- 41.- HECHT, E.R.: Lipids in blood clotting. Charles C. Thomas, Springfield, III, 1965.
- 42.- HIRST, A.E., GORE, I., TANAKA, K., SAMUEL, I. and KRISHNAMUKTI, I.: Myocardial infarction and pulmonary embolism. Arch. Path. (Chicago) 80: 365, 1965.
- 43.- HOLZNECHT, F. and BRAUNSTEINER, H.: Essentielle Hyperlipämie und Blutgerinnungsfaktoren. Acta Haematol. 8: 219, 1967.
- 44.- HOLZNECHT, F., SPOTTL, F., KNAPP, E., STEINMETZ, U. and BRAUNSTEINER, H.: A basic study on the global coagulation and fibrinolysis in hyperlipemic and atherosclerotic patients, part 1. Atherosclerosis 12: 415, 1970.
- 45.- HORLICK, L.: Platelet adhesiveness in normal persons and subjects with atherosclerosis. Effect of high

- fat meals and anticoagulants on the adhesive index. Amer. J. Cardiol. 8: 459, 1961.
- 46.- HOROWITZ, H.I., DES PREZ, R.M. and HOOK, E.W.: The effect of bacterial endotoxin on rabbit platelet, II: Enhancement of platelet factor 3 activity in vitro and in vivo: J. Exp. Med. 116,5: 619, 1962.
- 47.- HOWARD, A.N., and GRESHAM, G.A.: The dietary induction of thrombosis and myocardial infarction. J. Atheroscler. Res. 4: 40, 1964.
- 48.- HUGUES, J.: Accollement des plaquettes aux structures conjonctives périvasculaires. Thromb. Diath. Haemorrh. 8: 241, 1962.
- 49.- HUGUES, J., et LAPIERRE, C.H. : Nouvelles recherches sur l'accollement des plaquettes aux fibres de collagène. Thromb. Diath. Haemorrh. 11: 327, 1964.
- 50.- HUME, M.: Platelet adhesiveness and other coagulation factors in thrombophlebitis. Surg. 59: 110, 1966.
- 51.- INMANN, W.H., VESSEY, M.P., WESTERHOLM, B. and ENGE-LUND, A.: Thromboembolic disease and the steroidal content of oral contraceptives. A report to the committee on safety of drugs. Brit. Med. J. 2: 203, 1970.
- 52.- INNES, D. and SEVITT, S.: Coagulation and fibrinolysis in injured patients. J. Clin. Path. 17: 1, 1964.
- 53.- JAKES, L.B. et CHUBATY, W.: An effect of stress agents on prothrombin time. Revue d'Hémat. 9, 3bis: 523, 1954.
- 54.- JOHANSSON, S.A.: Heparin and some coagulation factors in experimental burn injuries. Acta Chir. Scand. 127: 346, 1964.
- 55.- JOHNSON, S.A.: Platelet in hemostasis. In "Blood clotting enzymology". Seegers, W.H. ed., New York, Academic Press. 1967, p.403.

- 56.- JOLLIFE, N. and ARCHER, M.: Statistical associations between coronary heart disease death rates and certain environmental factors. J. Chronic. Dis. 9: 636, 1959.
- 57.- KALEY, G., DEMOPOULOS, H. and ZWEIFACH, B.W.: Occlusive vascular lesions induced by bacterial endotoxin in kidneys of pregnant rats. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 109: 456, 1962.
- 58.- KANNEL, W.B., LE BAUER, E.J., DAWBER, T.R. and McNAMARA, P.M.: Relation of body weights to development of coronary heart disease. The Framingham Study. Circulation 35: 734, 1967.
- 59.- KASPER, C.K., HOAGH, S., and STONE, P.A.: Blood clotting factors in pregnancy : F. VIII concentration in normal and AHF deficient women. Obst. Gynec. 24: 242, 1964.
- 60.- KEOWN, D.: Review of arterial thrombosis in association with oral contraceptives. Brit. J. Surg. 56: 486, 1969.
- 61.- KEYS, A.: Diet and the epidemiology of coronary heart disease. J.A.M.A. 164: 1912, 1957.
- 62.- KEYS, A.: Coronary heart disease in seven countries. Circulation 41 (Supp 1) : 172, 1970.
- 63.- KIM, D.N., LEE, K.T., KEOKARN, Y., and THOMAS, W.A.: Dietary lipids and thrombosis : In vitro studies of the role of surface factors in the production of the "hypercoagulable" state in rats. Exp. Molec. Path. 2 (Suppl. 1) : 62, 1963.
- 64.- LARRIEU, M.J., SOULIER, J.P. et MINKOWSKI, A.: Etud. Néonatal. 1: 39, 1952.
- 65.- LATOUR, J.G. et RENAUD, S.: Prevention by glucocorticoids of various blood parameter changes following

- surgical intervention and endotoxin administration in the rat. *Canad. Med. Assoc. J.* 100: 20, 1969.
- 66.- LEVENE, M. and LEVENE, C.I.: Pulmonary platelet thromboembolism. *J. Clin. Path.* 10: 200, 1957.
- 67.- LEVINE, J.B. and ZAK, B.: Automated determination of serum total cholesterol. *Acta chimica* 10: 381, 1964.
- 68.- MAC DONALD, L.: Studies on blood coagulation and thrombosis, and on the action of heparin in ischemic heart disease. *Amer. J. Cardiol.* 9: 365, 1962.
- 69.- MAC DONALD, L. and EDGILL, M.: Coagulability of the blood in ischemic heart disease. *Lancet* 2: 457, 1957.
- 69 bis. MAC DONALD, L. and EDGILL, M.: Dietary restriction and coagulability of the blood in ischemic heart disease. *Lancet* 1: 996, 1958.
- 70.- MALMROS, H.: The relation of nutrition to health. A statistical study of the effect of the war time on arteriosclerosis, cardiosclerosis, tuberculosis and diabetes. *Acta Med. Scand. Suppl* 246: 137, 1950.
- 71.- MALMROS, H., BIOREK, G. and SWAHN, B.: Hypertension, atherosclerosis, and diet. *Acta Med. Scand.* 514 suppl.312: 71, 1956.
- 72.- MARCUS, A.J. and ZUCKER, M.B.: "The physiology of blood platelets". Grune and Stratton Inc., New York, 1965, p. 56.
- 73.- MARGOLIS, J.: Activation of Hageman factor by saturated fatty acids. *Austr. J. Exp. Biol. Med Sci.* 40: 505, 1962.
- 74.- MARGULIS, R., AMBUS, MINK, and STRYKER : Progestational agents and blood coagulation. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 93: 161, 1965.

- 75.- MARKUSH, R.E. and SEIGEL, D.G.: Oral contraceptives and mortality trends from thromboembolism in the United States. *Amer. J. Publ. Hlth.* 59: 418, 1969.
- 76.- MERSKEY, C. and MARCUS, A.J.: Lipids, blood coagulation and fibrinolysis. *Ann. Rev. Med.* 14: 323, 1963.
- 77.- MERSKEY, C. and WOHL, H.: Changes in blood coagulation and fibrinolysis in rats fed atherogenic diets. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 10: 295, 1963.
- 78.- Mc LACHLIN, J. and PATERSON, J.C.: Some basic observations on venous thrombosis and pulmonary embolism. *Surg. Gynecol. Obstet.* 93: 1, 1951.
- 79.- MEYEROWITZ, B.R.: Venous thrombosis in surgical patients. *Amer. J. Surg.* 113: 520, 1967.
- 80.- MOOLTEN, S.E., and VROMAN, L.: Adhesiveness of blood platelets in thrombo-embolism and haemorrhagic disorders, I. *J. Clin. Path.* 19: 701, 1949.
- 81.- MOOLTEN, S.E., VROMAN, L., and VROMAN, G.M.S.: Adhesiveness of blood platelets in thrombo-embolism and haemorrhagic disorders, II. *J. Clin. Path.* 19: 814, 1949.
- 82.- MOTTONEN, M.: Myocardial infarction and coronary atherosclerosis in Finland. An autopsy study covering 12 months in 1964-65. *Acta Path. Micr. Scand. Suppl.* 205, 1969.
- 83.- MUSTARD, J.F.: Increased activity of the coagulation during alimentary lipaemia : its significance with regard to thrombosis and atherosclerosis. *Canad. Med. Assoc. J.* 77: 308, 1957.
- 84.- MUSTARD, J.F.: The relationship between the structure of a thrombus or a hemostatic plug and the mechanisms involved in its formation. *Throm. Diath. Haemorrh.* 28 (suppl) : 57, 1968.

- 85.- MUSTARD, J.F., HEGARDT, B., ROWSELL, H.C., and MAC-MILLAN, R.L.: Effect of adenosine nucleotides on platelet aggregation and clotting time. J. Lab. Clin. Med. 64: 548, 1964.
- 86.- MUSTARD, J.F., MEDWAY, W., DOWNIE, H.G., and ROWSELL, H.C.: Effect of intravenous phospholipid containing phosphatidylserine on blood clotting with particular reference to the Russell's viper venom time. Nature (London) 196: 1063, 1962.
- 87.- MUSTARD, J.F., and MURPHY, E.A.: Effect of different dietary fats on blood coagulation, platelet economy and blood lipids. Brit. Med. J. 1: 1651, 1962.
- 88.- MUSTARD, J.F., MURPHY, E.A., ROWSELL, H.C., and DOWNIE, W.S.: Platelet and atherosclerosis. J. Atheroscler. Res. 4: 1, 1964.
- 89.- MUSTARD, J.F., ROWSELL, H.C., MURPHY, E.A., and DOWNIE, H.G.: Diet and thrombus formation : quantitative studies using an extracorporeal circulation in pigs. J. Clin. Invest. 42: 1783, 1963.
- 90.- NAIMI, S., GOLDSTEIN, R., NOTHMAN, M.M., WILGRAM, G.F., and PROGER, S.: J. Clin. Invest. 41: 1708, 1962.
- 91.- NEGUS, D., PINTO, D.J., and BROWN, N.: Platelet adhesiveness in post-operative deep vein thrombosis. Lancet 1:220, 1969.
- 92.- NILWIAROWSKI, S., and THOMAS, D.P.: Platelet aggregation by ADP and Thrombin. Nature 212: 1544, 1966.
- 93.- NILSSON, I.M., and KULLANDER, S.: Coagulation and fibrinolytic studies during pregnancy. Acta Obst. Gynec. Scand. 46, 3: 273, 1967.
- 94.- NILSSON, I.M., and KULLANDER, S.: Coagulation and fibrinolytic studies during use of gestagens. Acta Obst. Gynec. Scand. 46, 3: 286, 1967.

- 95.- NORDOY, A., DAY, H. and LUND, S.: Subcellular localisation of human platelet phospholipids and their fatty acid and aldehyde composition. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 23: 169, 1969.
- 96.- NORDOY, A., and RODSET, J.M.: Platelet phospholipids and their function in patients with ischemic heart disease. Acta Med. Scand. 188: 133, 1970.
- 97.- OLIVER, M.F.: Oral contraceptives and myocardial infarction. Brit. Med. J. 2: 210, 1970.
- 98.- OLLENDORF, P.: Coagulability of blood in acute myocardial infarction. Acta Med. Scand. 169: 373, 1961.
- 99.- OWEN, C.A., THOMPSON, WALTER, BOURE, DIDISHEIM, and SPITTEL : Coagulation studies during pregnancy and hormonal treatment. In "Blood coagulation, thrombosis and female hormones". The James F. Mitchell Foundation, Washington, D.C., 1968.
- 100.- PEPPER, H., and LINDSAY, S.: Response of platelets, eosinophils and total leucocytes during and following surgical procedures. Surg. Gynec. Obstet. March 1960.
- 101.- PEPPER, H., and LINDSAY, S.: Levels of platelets, eosinophils and leucocytes during the normal menstrual cycle and administration of norethynodrel. Internat. J. Fertil. 8: 467, 1963.
- 102.- POLLER, L., PRIEST, C.M., and THOMSON, J.M.: Platelet aggregation during oral contraception. Brit. Med. J. 4: 273, 1969.
- 103.- POOLE, J.C.G.: Phagocytosis of platelets by monocytes in organized arterial thrombi. An electromicroscopical study. Quart. J. Exp. Physiol. 51: 54, 1966.

- 104.- QUICK, A.J.: A new concept of venous thrombosis. Surg. Gynec. Obstet. 91: 296, 1950.
- 105.- RENAUD, S.: Endotoxin induced hepatic vein thrombosis in hyperlipemic rats : Sequence of events. Lab. Invest. 14: 424, 1965.
- 106.- RENAUD, S.: Production et prévention de phénomènes thrombotiques et athérosclérotiques chez le rat hyperlipémique. L'Union Med. du Canada 97, 1968.
- 107.- RENAUD, S.: Jugular vein technique for blood collection and intravenous injection in the rat. Lab. Animal Care 19: 664, 1969.
- 108.- RENAUD, S.: The recalcification plasma clotting time. A valuable general clotting test in man and rat. Canad. J. Physiol. Pharmacol. 47: 698, 1969.
- 108 bis.- RENAUD, S., and LATOUR, J.G.: Prevention by a glucocorticoid of the thrombotic and hemorrhagic tendencies consecutive to shock and surgical intervention in rat. Thromb. Diath. Haemorrh. 21: 151, 1969.
- 109.- RENAUD, S.: Thrombotic, atherosclerotic and lipemic effects of dietary fats in the rat. Angiology 20: 657, 1969.
- 110.- RENAUD, S., GAUTHERON, P., and LECOMPTE, F.: Platelet phospholipid activity in hyperlipemia induced hypercoagulability. Communication: Federation Amer. Soc. Exp. Biol., 55th annual meeting, Chicago, III. Avril 1971.
- 111.- RENAUD, S., and GODU, J.: Thrombosis prevention by acetyl-salicylic acid in hyperlipemic rats. Canad. Med. Assoc. J. 103: 1037, 1970.
- 112.- RENAUD, S., KINLOUGH, R.L., and MUSTARD, J.F.: Relationship between platelet aggregation and thrombotic

- tendency in rat fed hyperlipemic diets. Lab. Inves. 14: 424, 1969.
- 113.- RENAUD, S., KUBA, K., GOULET, C., LEMIRE, Y., and ALLARD, C.: Relationship between platelet fatty acid composition and platelet aggregation in rat and man, in connection with thrombosis. Circ. Res. 26: 553, 1970.
- 114.- RENAUD, S., and LECOMPTE, F.: Thrombosis prevention by coagulation and platelet aggregation inhibitors, in hyperlipemic rats. Thromb. Diath. Haemorrh. 24: 577, 1970.
- 115.- RENAUD, S., and LECOMPTE, F.: Hypercoagulability induced by hyperlipemia in rat, rabbit and man. Role of platelet factor 3. Circ. Res. 27: dec. 1970.
- 116.- ROBERTS, C.J.J., and WILKINS, R.H.: Atherosclerosis in obese patients at autopsy. Circulation 18: 495, 1958.
- 117.- ROBINSON, C.W., KRESS, S.C., WAGNER, R.H., and BRINKHOUS, K.M.: Platelet agglutination and deagglutination with a sulfhydryl inhibitor, methyl-mercuric nitrate. Relationship to platelet ATPase. Exp. Molec. Path. 4: 4, 1965.
- 118.- ROSKAM, J., HUGUES, J., BOURNAMEAUX, Y., and SALMON, J.: The part played by platelets in the formation of an efficient haemostatic plug. Thromb. Diath. Haemorrh. 3: 510, 1959.
- 119.- ROTH, H.C., ROSENTHAL, W., and MANDEL, E.E.: Lipemia induced acceleration of intravascular clotting. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101: 516, 1959.
- 119 bis.- ROZENBERG, M.C., and FIRKIN, B.G.: Rate of platelet aggregation in haemorrhagic disease and thrombosis. Scand. J. Haemat. 3: 5, 1966.

- 120.- RUTHERFORD, R.N., HOUGIE, C., BANKS, L., and COBURN, W.A.: The effects of sex steroids and pregnancy on blood coagulation factors : a comparative study. Obstet. Gynec. 24: 886, 1964.
- 121.- SCHONFELDER, M., and ZSCHOCH, H.: Konstitution, Körper- und Herzgewicht bei Koronarsklerose und Myokardinfarkt. Z. Ges. Inn. Med. 22: 415, 1967.
- 122.- SEVITT, S., and GALLACHER, N.G.: Venous thrombosis and pulmonary embolism. A clinico-pathological study in injured and burned patients. Brit. J. Surg. 48; 475, 1961.
- 123.- SHAPER, A.G., KEAR, MACINTOSH, KYOKE, and NJAMA,: The platelet count, platelet adhesiveness and aggregation and the mechanism of fibrinolytic inhibition in pregnancy and the puerperium. J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth. 15: 433, 1968.
- 124.- SHAPIRO, S., WHERWIN, B., and GORDIMER, H.: Post-operative thrombo-embolization: platelet count and prothrombin time after surgical operations. Ann. Surg. 116: 175, 1942.
- 125.- SISE, H.: Anovulatory hormones and blood coagulation. In "Blood coagulation, thrombosis, and female hormones". The James F. Mitchell Foundation, 1968, Washington, D.C.
- 126.- SOULIER, J.P., and PROU-WARTELLE, O.: New data on Hageman factor and plasma thromboplastin antecedant : the role of "contact" in the initial phase of blood coagulation. Brit. J. Haemat. 6: 88, 1960.
- 127.- SPECTOR, A.A., HOAK, J.C., WARNER, E.D., and FRY, G.L.: Utilisation of long chain free fatty acids by human platelets. J. Clin. Invest. 49: 1489, 1970.

- 128.- SPITTEL, J.A., PASCUZZI, C.A., THOMPSON, J.H., and OWEN, C.A.: Acceleration of early stages of coagulation in certain patients with occlusive arterial or venous diseases : use of a modified thromboplastin generation test to evaluate clot acceleration. Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 35: 37, 1960.
- 129.- STORMORKEN, H.: Platelet adhesiveness in coronary heart disease. Evaluation of the platelet rich plasma- ADP method. Acta Med. Scand. 188: 339, 1970.
- 130.- STROM, A., and JENSEN, R.A.: Mortality from circulatory diseases in Norway 1940-1945. Lancet 1: 126, 1951.
- 131.- THOMAS, W.A., DAVIES, J.N.P., O'NEAL, R.M., and DIMAKULANGAN, A.A.: Incidence of myocardial infarction correlated with venous and pulmonary thrombosis and embolism. Amer. J. Cardiol. 5: 41, 1960.
- 132.- THOMAS, W.A., and HARTROFT, W.S.: Myocardial infarction in rats fed diets containing high fat, cholesterol, thiouracil and sodium cholate. Circulation, 19: 65; 1959.
- 133.- VILLASANTA, U.: Thromboembolic disease in pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynec. 93: 1,142.
- 134.- VIRCHOW, R.: Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin. Von Meidinger Sohn und Komp., Frankfurt am Main, 1856.
- 135.- WARREN, R., AMDUR, M.O., BELKO, J., and BAKER, D.V.: Post-operative alteration in the coagulation mechanism of blood. Arch. Surg. (Chicago) 61: 419, 1950.
- 136.- WEISS, H.J.: Platelet aggregation, adhesion and ADP release in thrombopathia (platelet F 3 deficiency). A comparison with Glanzman's thrombasthenia and Von

- Willebrand's disease. Amer. J. Med. 43: 570, 1967.
- 137.- WILKINS, R.H., ROBERTS, J.C., and MOSES, C.: Autopsy studies in atherosclerosis. III: Distribution and severity of atherosclerosis in the presence of obesity, hypertension, nephrosclerosis and rheumatic disease. Circulation 20: 527, 1959.
- 138.- WONG, T.C.: A study on the generalized Schwartzman reaction in pregnant rats, induced by bacterial endotoxin. Amer. J. Obstet. Gynec. 84: 786, 1962.
- 139.- WRIGHT, H.P.: Changes in the adhesiveness of blood platelets following parturition and surgical operation. J. Path. Bact. 54: 461, 1942.
- 140.- YGGE, J.: Studies on blood coagulation and fibrinolysis in conditions associated with an increased incidence of thrombosis. Scand. J. Haemat. Suppl. 11, 1970.
- 141.- ZAHAVI, J., and DREYFUS, F.: An abnormal pattern of adenosine-diphosphate induced platelet aggregation in acute myocardial infarction. Thromb. Diath. Haemorrh. 21: 76. 1969.
-

TABLEAU 1

COMPOSITION DES DIVERSES SOLUTIONS UTILISEES

ANTICOAGULANTS

Citrate de sodium à 3,8 %

Citrate de sodium : 3,8 g

Eau distillée q.s.p. 100 ml

Ajuster le pH à 7,4 avec de l'acide citrique à 10 %.

EDTA à 0,5 %

EDTA (sel disodique)

0,5 g

NaCl

0,86 g

Dextrose

0,10 g

Eau distillée q.s.p.

100 ml

EDTA à 1,6 %

EDTA (sel disodique)

1,60 g

NaCl

0,66 g

Dextrose

0,10 g

Eau distillée q.s.p.

100 ml

CHLORURE DE CALCIUM $\frac{M}{50}$

CaCl₂ anhydre (P M 111)

0,28 g

NaCl

0,525 g

Eau distillée q.s.p.

100 ml

SOLUTION DE TYRODE INCOMPLETE

Chlorure de sodium (NaCl)

8,70 g

Chlorure de potassium (KCL)

0,20 g

Carbonate monosodique (NaHCO₃)

0,80 g

Dextrose

1,00 g

Phosphate monosodique (NaH₂PO₄. H₂O)

0,05 g

Eau distillée q.s.p.

1000 ml

SOLUTION DE TYRODE COMPLETE

Ajouter à 300 ml de la solution précédente

Chlorure de calcium (CaCl₂)

0,60 ml *

Chlorure de magnésium (MgCl₂)

0,09 ml **

* Solution de CaCl₂ : CaCl₂ anhydre 0,28 g + eau dist. 2,8 ml

** Solution de chlorure de Magnésium à 34 %

TABEAU 2

FACTEURS PLASMATIQUES DE LA COAGULATION DANS LA MALADIE ATHEROMATEUSE ET L'HYPERLIPEMIE.*			
	Mac Donald (69)	Egeberg (24)	Mustard (83)
F I	A		
F VII	I		
F VIII		A	
F IX			A (après un repas riche en graisses et en oeufs)

FACTEURS PLASMATIQUES DE LA COAGULATION DANS L'HYPERLIPEMIE CHEZ LE RAT							
	I	II	V	VII	VIII	IX	X
Davidson (16-17)	A	A	A	A	A	A	A
Fischer (30)	I	A	I	A			A
Howard (47)	A	A	A	A	A	A	A
Merskey (77)	A	A	A ++	A + (VII-X)	A +	A	A

* A = augmenté

I = inchangé

A + = très augmenté

TABLEAU 3

FACTEURS PLASMATIQUES DE LA COAGULATION PENDANT LA GROSSESSE *									
Auteurs	I	II	V	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Kasper (59)	A	I	I	A	A	A	A		
Larrieu (64)			I	A			A		
Nilsson (93)	A		I		A	I			
Owen (99)			I	A	I	I	A		
Poller (102)				A	A		A+		
Rutherford(120)				A	A	D			

* A = augmenté

I = inchangé

D = diminué

TABLEAU 4

FACTEURS PLASMATIQUES DE LA COAGULATION AU COURS D'UN TRAITEMENT CONTRACEPTIF *									
Auteurs	I	II	V	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Beller (5)	A			A					
Braknan (10)	A								
Donayre (20)	A		I	A VII-X	I		I		
Egeberg (24)					A				
Margulis (74)	I		I	I					
Nilsson (94)	I		I		I	I			
Owen (99)			I	A	I	I	I		
Poller (102)				A	I		A		
Rutherford (120)			A	A	A		A	D	A
Sise (125)		A	I	I	I		I	I	

* A = augmenté

A + = très augmenté

I = inchangé

TABLEAU 5

FACTEURS PLASMATIQUES DE LA COAGULATION APRES LA CHIRURGIE (après le 4e 5e jour)								
	I	II	V	VII	VIII	IX	X	XI
Egeberg (22)	A	I	I	I	A+	A		A
Davidson (18)	A	I			A	A	A	
Warren (135)	A							

* A = augmenté

A + = très augmenté

I = inchangé

TABLEAU 6

DIFFERENTS TESTS EXPLORANT LA COAGULATION DANS DES SITUATIONS THROMBOGENES *					
Situations	Auteurs	Tests			
Maladie athéros-cléreuse et hyperlipémie chez l'homme		Test de tolérance à l'héparine	Génération de la thrombo-plastine	prothrombine %	TC-Cep
	Beaumont (3-4)	A			
	Mac Donald (69-69bis)		A		
	Spittel (128)		A		
hyperlipémie chez le rat	Fischer (30)				A
	Merskey (77)		D		
Grossesse contraceptifs	Donayre (20)			A	
	Margulis (74)			I	
	Owen (99)			I (temps de prothrombine)	
	Sise (125)			A	A
Chirurgie	Egeberg (22)				I

* A = augmenté

I = inchangé

D = diminué

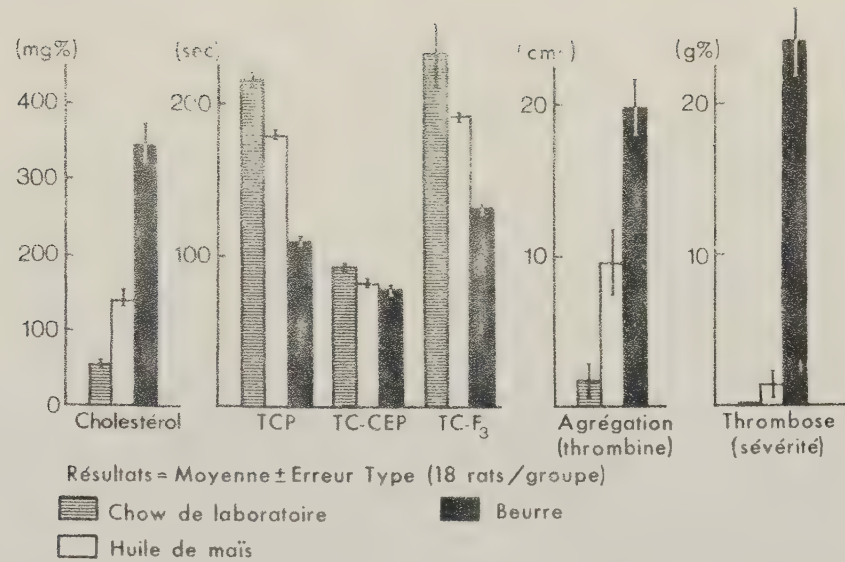


Figure 1: Influence de 3 régimes différents donnés pendant 10 semaines, sur le cholestérol sérique, la coagulation, l'agrégation des plaquettes et la sévérité des thromboses chez le rat.

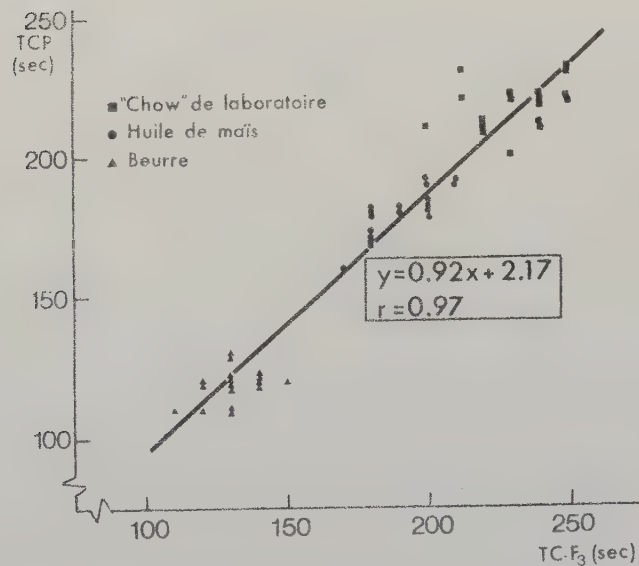


Figure 2: Relation entre le temps de coagulation du plasma et celui du facteur 3 chez les mêmes rats que la figure 1.

RELATION ENTRE L'ACHÈVE COAGULANTE
DES PLACQUETTES SANGUINES ET DE LEUR
ÉTAT DE COAGULATION CHEZ LE RAT

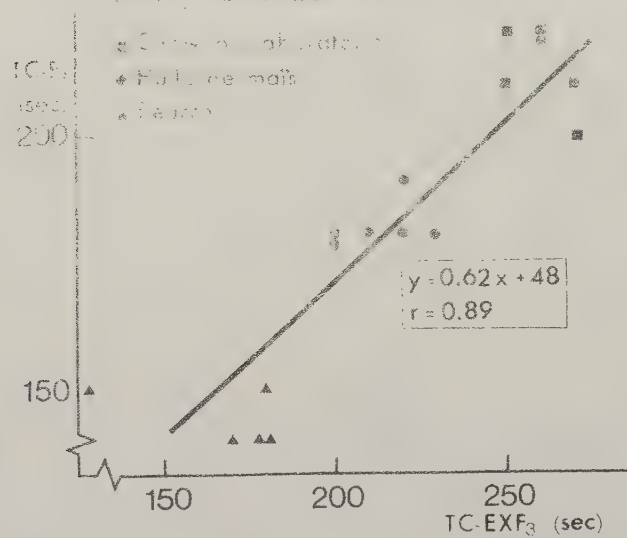


Figure 3

RELATION ENTRE LE TEMPS DE COAGULATION
DU PLASMA ET DU FACTEUR 3 CHEZ 27
HOMMES ET FEMMES D'ÂGE DIVERS

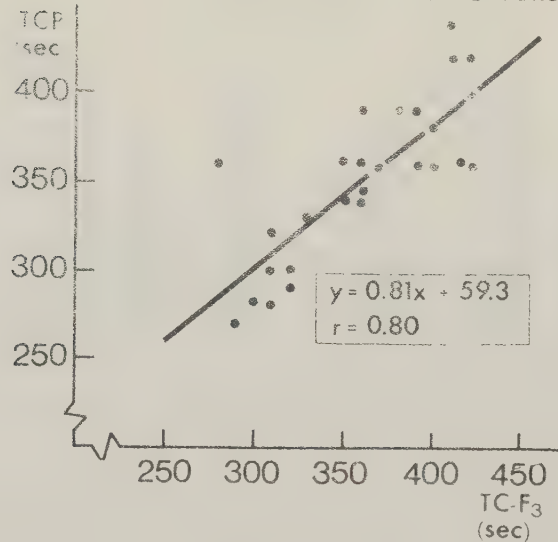


Figure 4

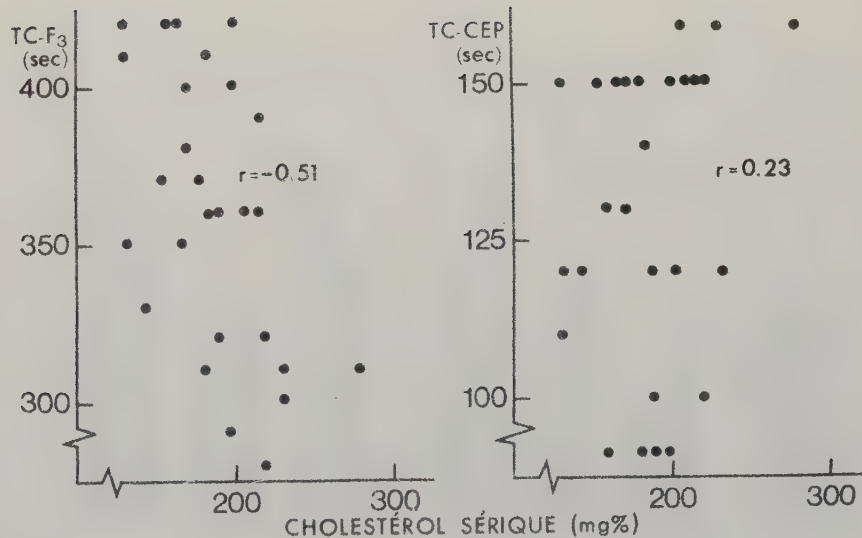
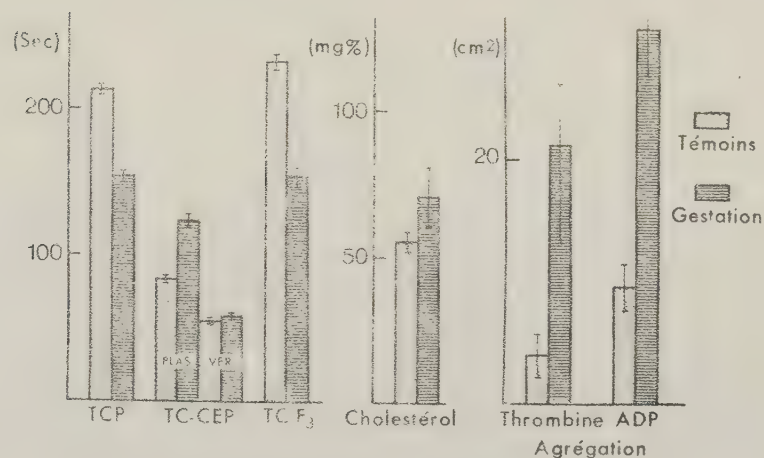


Figure 5: Relation entre le temps de coagulation du facteur 3, le temps de céphaline et le cholestérol sérique chez les mêmes sujets que la figure précédente.

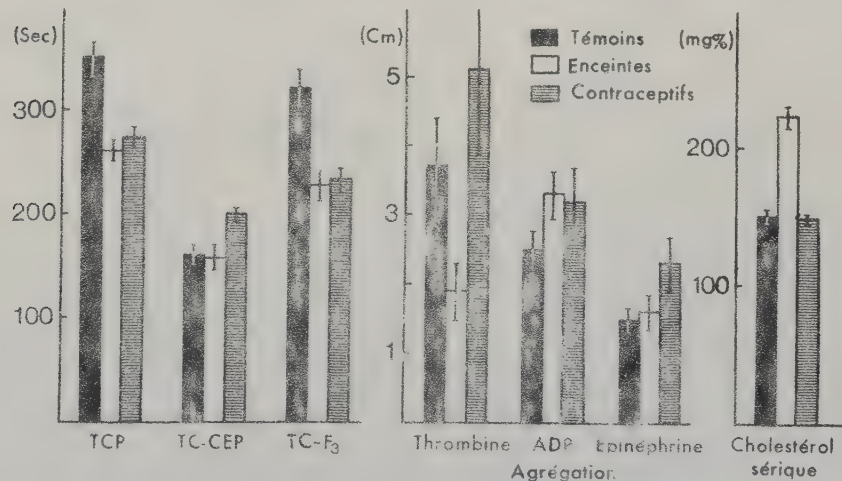
INFLUENCE DE LA GESTATION SUR LA COAGULATION ET L'AGRÉGATION DES PLAQUETTES CHEZ LE RAT



Résultats = Moyenne $\pm$ Erreur Type (10 à 19 déterminations / groupe)

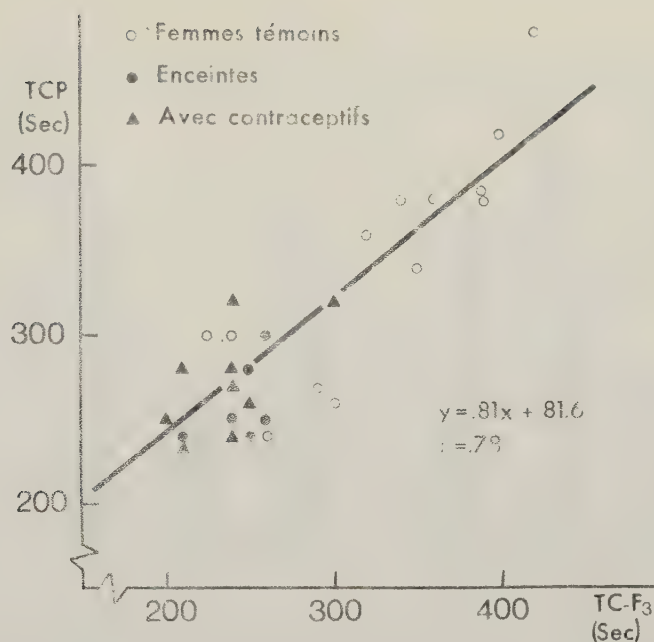
Figure 6

INFLUENCE DE LA GROSSESSE ET DES CONTRACEPTIFS SUR LA COAGULATION ET L'AGRÉGATION DES PLAQUETTES CHEZ LA FEMME

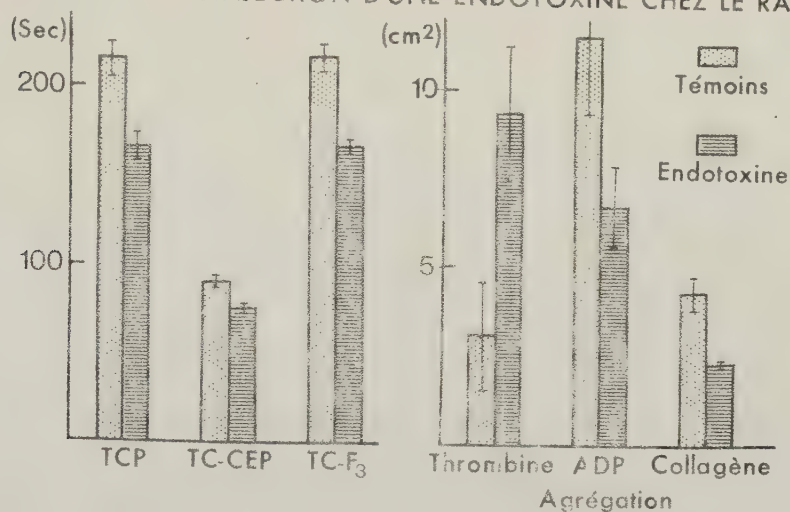


Résultats = Moyenne $\pm$ Erreur type (6 à 14 déterminations / groupe)

Figure 7



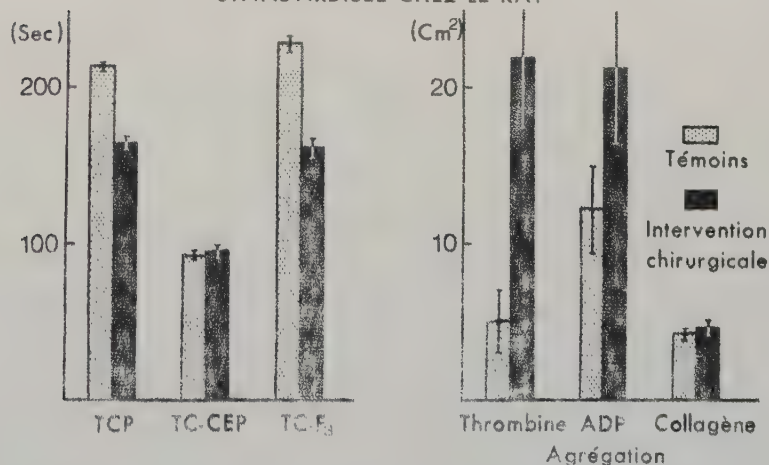
COAGULATION ET AGRÉGATION DES PLAQUETTES
4 JOURS APRES L'INJECTION D'UNE ENDOTOXINE CHEZ LE RAT



Résultats = Moyenne $\pm$ Erreur Type (11 à 14 déterminations/groupe)

Figure 10

COAGULATION ET AGRÉGATION DES PLAQUETTES QUATRE
JOURS APRES UNE INTERVENTION CHIRURGICALE
STANDARDISÉE CHEZ LE RAT



Résultats = Moyenne $\pm$ Erreur Type (7 à 12 déterminations/groupe)

Figure 11

RELATION ENTRE LE TEMPS DE COAGULATION
DU PLASMA ET CELUI DU FACTEUR 3,
QUATRE JOURS APRES UN CHOC OU
UNE INTERVENTION CHIRURGICALE CHEZ LE RAT

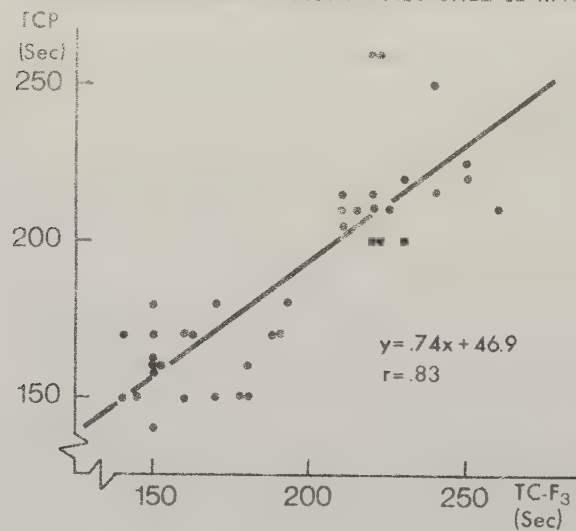


Figure 12

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le Recteur de l'Académie de PARIS

Robert MALLET.

VU

Le Doyen
de la Faculté de Médecine
de CRETEIL

VU

Le Président de Thèse

M. RAPIN.

